

TEMA 4 (II). LAS ENZIMAS.

1. Introducción.

- Las transformaciones que ocurren en los seres vivos son el resultado de un conjunto de reacciones químicas que constituyen el metabolismo celular.
- Estas reacciones deben producirse secuencialmente, de forma ordenada y a una velocidad enorme. Esto es posible gracias a la participación de las enzimas.
- Un enzima es una molécula proteica con actividad catalítica. Son moléculas muy específicas que actúan como biocatalizadores.
- Un catalizador es una sustancia que está presente en una reacción química en contacto físico con los reactivos, y acelera, induce o propicia tal reacción sin actuar en la misma.
- Las enzimas actúan sobre moléculas llamadas sustratos y generan otras llamadas productos.
- Existen ARN catalíticos llamados ribozimas.

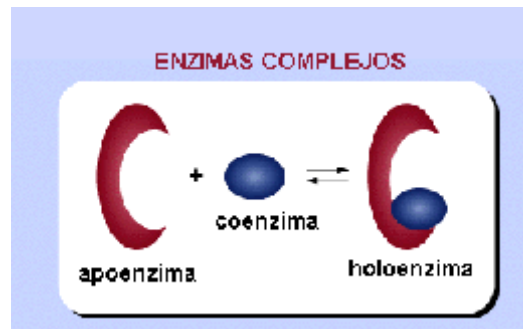
2. Propiedades de los enzimas.

- Presentan todas las características de las proteínas (desnaturalización, especificidad, etc.) y otras peculiares como:
 - Gran actividad catalítica.
 - Elevan la velocidad de una reacción entre 10^6 y 10^{14} veces.
 - Aceleran las reacciones sin alterar su equilibrio.
 - Quedan libres y activas tras la transformación.
 - No dejan subproductos.
 - Especificidad de sustrato.
 - Actúan sobre una o pocas moléculas.
 - Realizan un único tipo de transformación.
 - Requieren condiciones suaves de pH y temperatura.
 - Las que se dan en las disoluciones de los seres vivos.
 - Su actividad se puede regular.
 - Masa molecular muy elevada (12.000-1.000.000)
 - Tamaño mucho mayor que el del sustrato.

3. Tipos de enzimas.

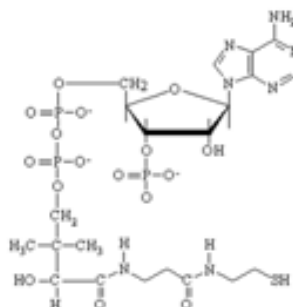
- Según su composición se distinguen dos grandes tipos:
- Holoproteínas o enzimas simples.
 - Formadas sólo por polipéptidos.
 - Ejem: ARN pancreática (cataliza la hidrólisis del ARN)

- **Holoenzimas** o enzimas conjugadas.
 - Formadas por una parte proteica, llamada **apoenzima**, y otra no proteica llamada **cofactor**.
 - El cofactor puede ser:
 - **Un ión metálico** como Fe^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} .
Ejem. La citocromo oxidasa transfiere electrones en la cadena respiratoria y contiene un átomo de Fe y otro de Cu.
 - **Una coenzima.** Molécula compleja que en muchos casos contiene una vitamina. Algunos **ejemplos** son:
 - FAD^+ riboflavina.....vitamina B_2 .
 - NAD^+ ácido nicotínico.....vitamina B_3 .
 - Co A.....ácido pantoténico.....vitamina B_5 .
 - Cuando el cofactor está permanentemente unido al apoenzima se denomina grupo prostético.
Ejem: Citocromo c. Enlace covalente con un grupo hemo.
 - El apoenzima determina sobre qué molécula se actúa (especificidad) y el cofactor la transformación que se realiza.
 - Ambos por separado son inactivos.
 - Un mismo cofactor puede formar parte de varios holoenzimas.

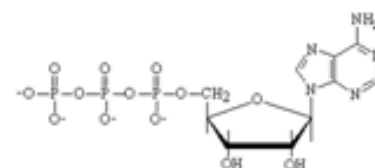


Coenzimas: Actúan como transportadores eventuales de átomos específicos o de grupos funcionales	
Coenzimas	Entidad transferida
Pirofosfato de tiamina	Aldehídos
Dinucleótido de flavina y adenina.	Átomos de hidrógeno
Dinucleótido de nicotinamida y de adenina	Ion hidruro (H^-)
Coenzima A	Grupos acilo
Fosfato de Piridoxal	Grupos amino
5'-Desoxicobalamina (Coenzima B12)	Átomos de H y grupos alquilo
Biocitina	CO_2
Tetrahidrofolato	Otros grupos monocarbonados

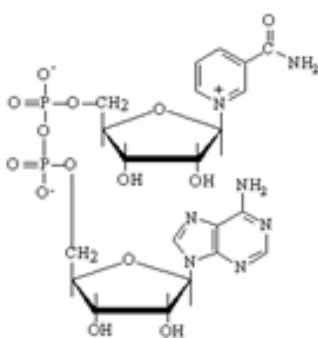
Coenzimas



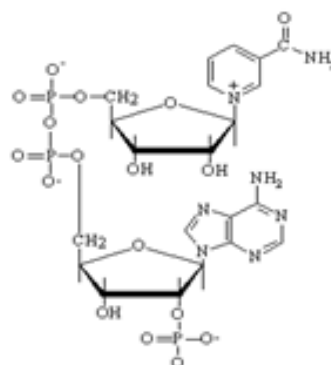
Coenzyme A (CoA)



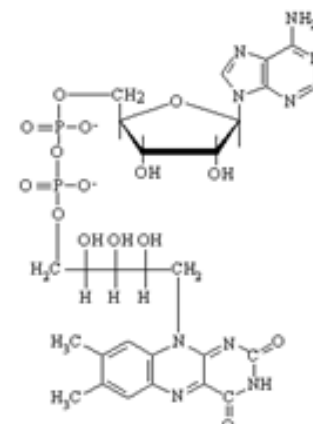
Adenosine Triphosphate (ATP)



Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD+)



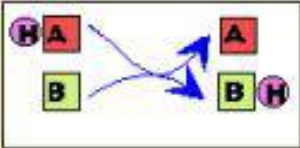
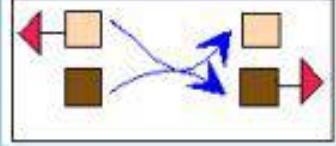
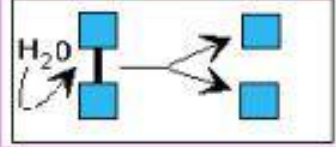
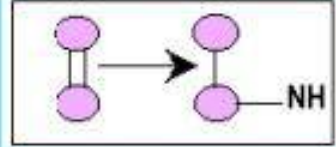
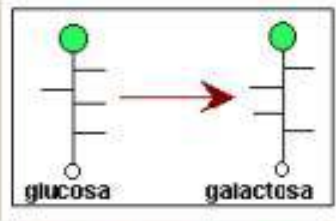
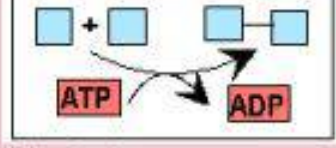
Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (NADP+)



Flavin Adenine Dinucleotide (FAD)

- Para **nombran** los enzimas se utilizan varios criterios:
 - Añadir el sufijo **–asa** al sustrato, reacción catalizada o ambos.
Ejem: Ureasa, transaminasas, piruvato descarboxilasa.
 - Nombres **tradicionales** sin relación.
Ejem: Tripsina, pepsina o ptialina.
 - Clasificación en **seis clases** principales según la reacción catalizada (debido al gran número de enzimas conocidos).
- Estos **seis tipos** son los siguientes:

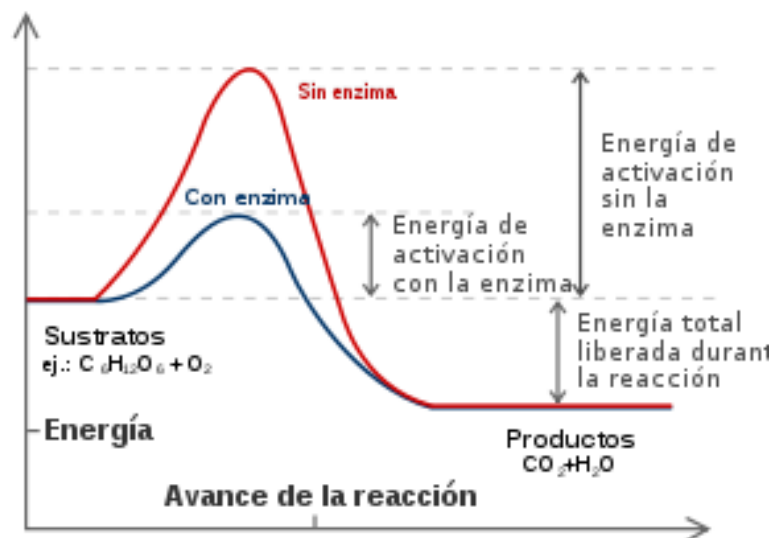
GRUPO	REACCIÓN CATALIZADA	REACCIÓN TÍPICA	TIPO DE ENZIMA
EC 1 Oxidorreductasas	Reacciones de oxidación-reducción y de transferencia de átomos de H ₂ O o electrones desde una sustancia a otras.	$AH + B \rightarrow A + BH$ (reducida) $A + O \rightarrow AO$ (oxidado)	Deshidrogenasa, oxidasa
EC 2 Transferasas	Transferencia de un grupo funcional desde una sustancia a otra. El grupo puede ser metil-, acil-, amino- o fosfato.	$AB + C \rightarrow A + BC$	Transaminasa, quinasa
EC 3 Hidrolasas	Formación de dos productos de un sustrato por hidrólisis.	$AB + H_2O \rightarrow OH + BH$	Lipasa, amilasa, peptidasa
EC 4 Liasas	Acción o eliminación no hidrolítica de grupos de los sustratos. Pueden romper enlaces C-C, C-N, C-O o C-S.	$RCO_2COH \rightarrow RCOH + CO_2$	Descarboxilasa
EC 5 Isomerasas	Isomerización de una molécula.	$AB \rightarrow BA$	Isomerasa, mutasa
EC 6 Ligasas	Unión de dos moléculas por síntesis de nuevos enlaces C-O, C-S o C-C con la rotura simultánea de ATP.	$X + Y + ATP \rightarrow XY + ADP + Pi$	Sintetasa

<p>Óxido-reductasas (Reacciones de oxido-reducción).</p>	 <p>Si una molécula se reduce, tiene que haber otra que se oxide</p>
<p>Transferasas (Transferencia de grupos funcionales)</p>	 <p>grupos aldehidos grupos acilos grupos glucosilos grupos fosfatos (kinasas)</p>
<p>Hidrolasas (Reacciones de hidrólisis)</p>	 <p>Transforman polímeros en monómeros. Actúan sobre: enlace ester enlace glucosídico enlace peptídico enlace C-N</p>
<p>Liasas (Adición a los dobles enlaces)</p>	 <p>Entre C y C Entre C y O Entre C y N</p>
<p>Isomerasas (Reacciones de isomenización)</p>	 <p>glucosa galactosa</p>
<p>Ligasas (Formación de enlaces, con aporte de ATP)</p>	 <p>Entre C y O Entre C y S Entre C y N Entre C y C</p>

4. Mecanismo de acción enzimática.

4.1 La energía de activación.

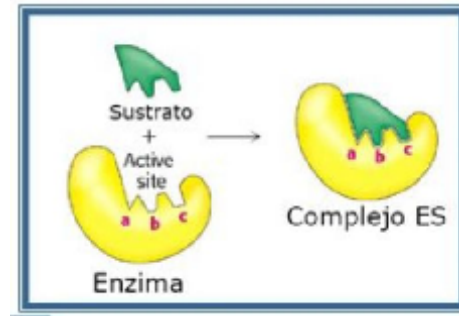
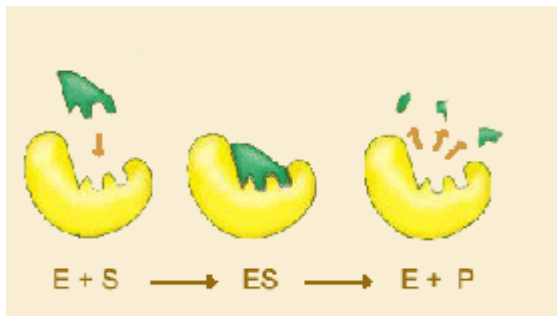
- Para que ocurra una reacción química es necesario que los reactivos choquen entre sí.
- Los choques han de ser suficientes para relajar o romper unos enlaces y favorecer que se formen otros.
- Para que las moléculas o átomos choquen han de estar en movimiento y eso supone un suministro de energía.
- La energía mínima necesaria para que la reacción se produzca se denomina energía de activación y permite la formación del complejo activado.
- Esta energía puede conseguirse de dos formas:
 - **Medios físicos.** Aumento de temperatura (más agitación) o descargas eléctricas.
 - **Medios químicos.** Utilización de catalizadores.
- Los medios físicos no son posibles en los seres vivos por lo tanto estos recurren a los enzimas que son catalizadores biológicos.
- Los enzimas forman una asociación pasajera con los sustratos que genera un complejo activado menos energético.
- Así la reacción se produce más rápida y el enzima no se altera aunque se utilice repetidamente.



4.2. El centro activo.

- El enzima se une al sustrato formando el complejo enzima-sustrato que tras la transformación se separa en productos y enzima libre.

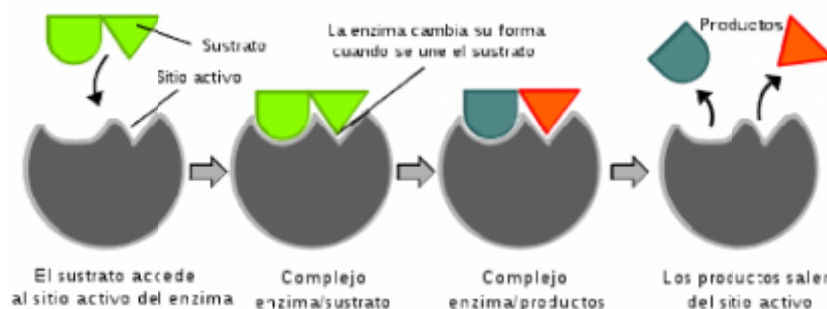


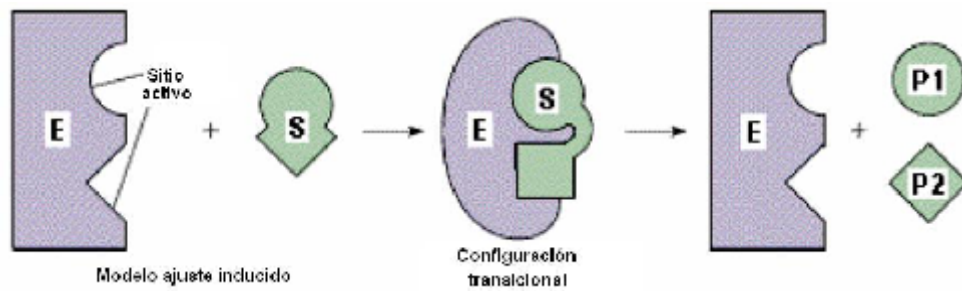


- La unión se produce en un lugar muy concreto del enzima llamado centro activo en el que se localizan dos tipos de aas.
 - De unión.** Grupos hidrófobos y cargas.
 - Catalíticos.** Inducen la transformación.
- En los holoenzimas el cofactor se alberga en el centro activo.

4.3. La especificidad enzimática.

- La complementariedad del centro activo con el sustrato determina dos niveles de especificidad:
 - De acción.** El enzima realiza un solo tipo de transformación
 - De sustrato.** Actúa sobre un único o pocos sustratos
 - Absoluta.** Sólo uno.
Ejem. Ureasa. Desdobla esta sustancia en CO_2 y NH_3 .
 - De grupo.** Transforma sustrato con un tipo de enlace.
Ejem. Descarboxilasa de aas. Eliminan CO_2 de varios tipos de aas aunque a velocidades distintas.
 - Estereoquímica.** Actúa sobre un único isómero óptico.
Ejem. Aspartasa. Sólo afecta al L-aspartato.
- Para explicar la **especificidad enzima-sustrato** se establecen dos hipótesis.
 - 1948, Fischer.** Complementariedad **llave-cerradura** (4.2)
 - 1958, Khosland.** **Ajuste inducido.** Compara la unión a la de una mano y un guante (el enzima cambia de forma cuando se une al sustrato).



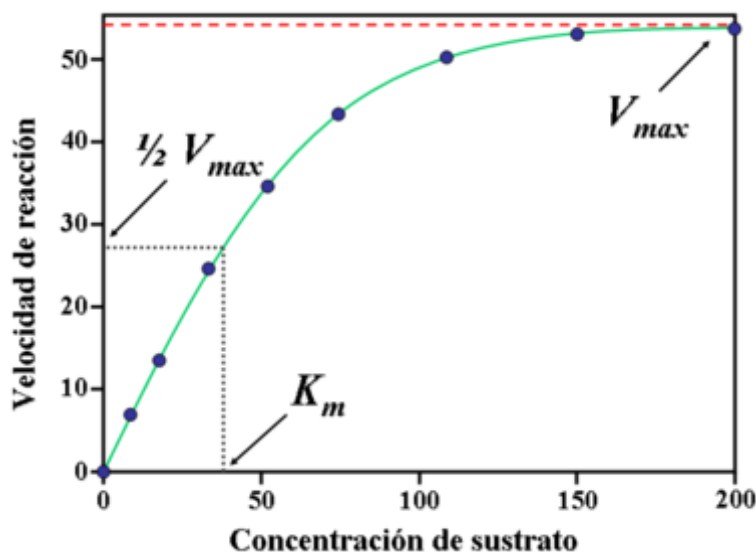


5. Cinética enzimática.

- Estudia la velocidad con que se forma y desintegra el complejo ES y depende de varios factores como la concentración de sustrato, la temperatura, el pH y la acción de inhibidores.
- Estos factores regulan la actividad enzimática en el medio celular.

5.1. La concentración de sustrato.

- La velocidad de la reacción aumenta si manteniendo constante la concentración del enzima aumentamos la del sustrato.
- Esto ocurre exponencialmente cuando hay poca cantidad de sustrato y se va atenuando cuando hay mayor concentración del mismo.
- Cuando esta alcanza un determinado valor la velocidad se estabiliza y no aumenta aunque continuemos añadiendo sustrato.



- Esto ocurre porque la velocidad de la reacción, medida como cantidad de producto que se forma por unidad de tiempo, depende del equilibrio entre la forma libre del enzima [E] y su forma combinada [ES].
- Si hay mucho sustrato, en cuanto el complejo ES se escinde, se une a otra molécula de S por lo que enzima se satura y la velocidad no aumenta más.
- Michaelis y Menten estudiaron la variación de la velocidad en función de la concentración del sustrato y a partir de la siguiente ecuación.

$$v = \frac{v_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

- También definen una constante K_M cuyo valor es la $[S]$ a la que la velocidad de la reacción enzimática es la mitad de la velocidad máxima. En ese punto la mitad del enzima está formando complejo ES.
 - Si K_M es pequeña quiere decir que con poco sustrato se alcanza $\frac{1}{2} V_{MAX}$ y por tanto el E tiene una gran actividad por el S.
 - Si K_M es alta se requiere mucho sustrato para alcanzar $\frac{1}{2} V_{MAX}$ y eso indica que hay poca afinidad entre E y S.
- La constante de Michaelis-Menten es característica de cada reacción y refleja la afinidad de un enzima por su sustrato.

5.2. El pH y la temperatura.

- Cada enzima presenta un pH óptimo para que su actividad sea máxima.
- En tal situación su K_M es mínima y su velocidad máxima.
- Pequeñas alteraciones de pH provocan el descenso brusco de la actividad pues modifican las cargas de los aas de centro activo.
- Si la variación es elevada el enzima se desnaturaliza.

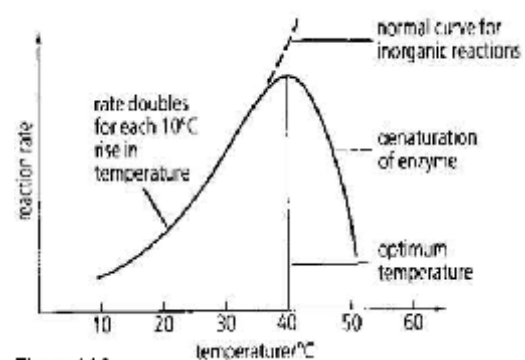
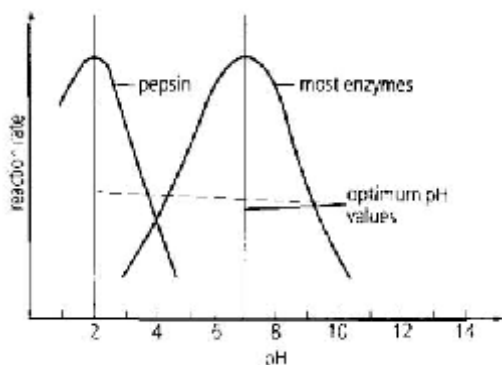


Figura 14.9

- El incremento de temperatura aumenta la velocidad de las reacciones químicas (mayor agitación de las moléculas).
- En las enzimáticas la actividad se duplica cada 10 °C hasta alcanzar un valor máximo en torno a 40 °C.
- A partir de ese valor la molécula cesa su actividad por pérdida de la estructura terciaria.

5.3. Los inhibidores.

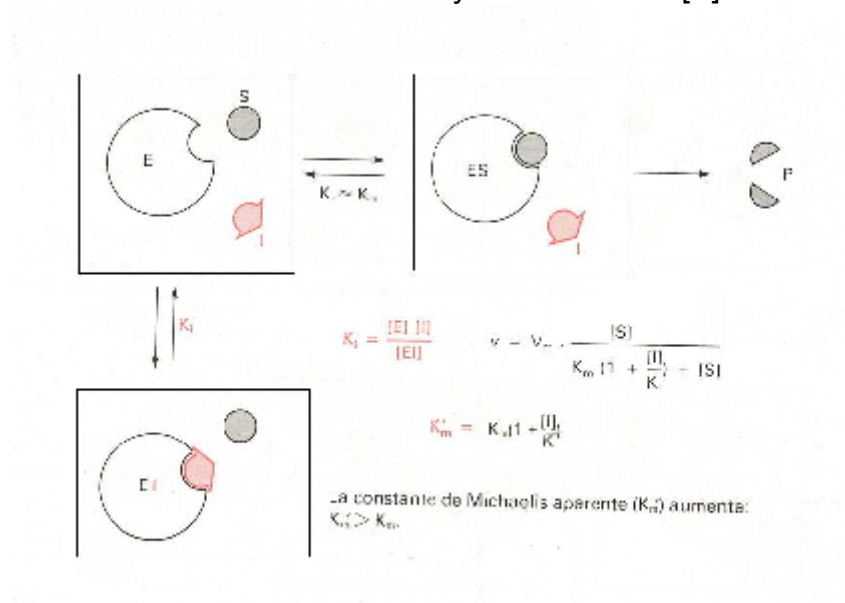
- Son sustancias químicas que disminuyen o bloquean la actividad de los enzimas.

- Los tipos de inhibición son:

- **Irreversible.** Unión permanente del I y el E (venenos).
- **Reversible.** Unión temporal que no destruye la actividad enzimática pero la ralentiza.

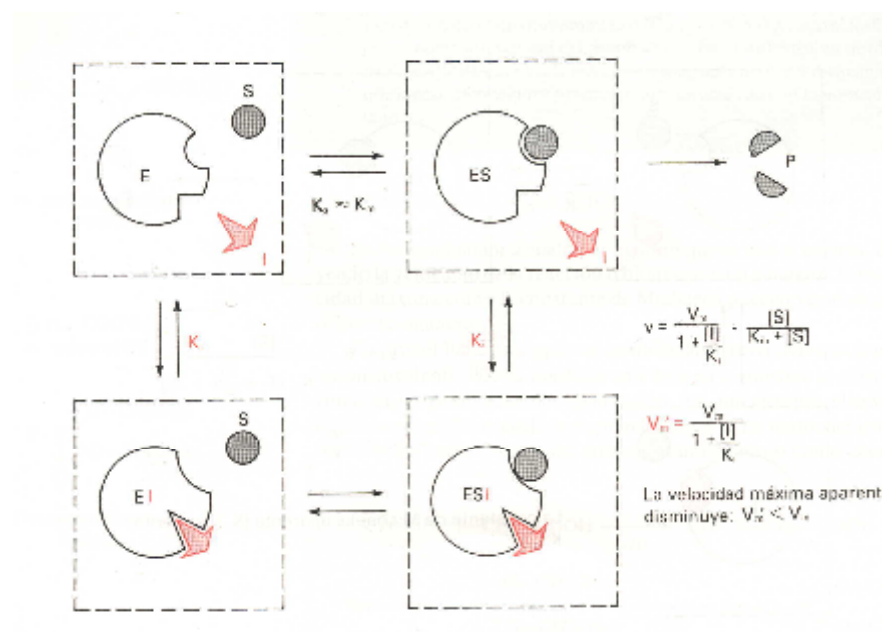
- **Competitiva.**

- Tanto S como I pueden unirse al centro activo.
- Cuando la unión es con I no se produce reacción.
- Su efecto disminuye aumentando [S].

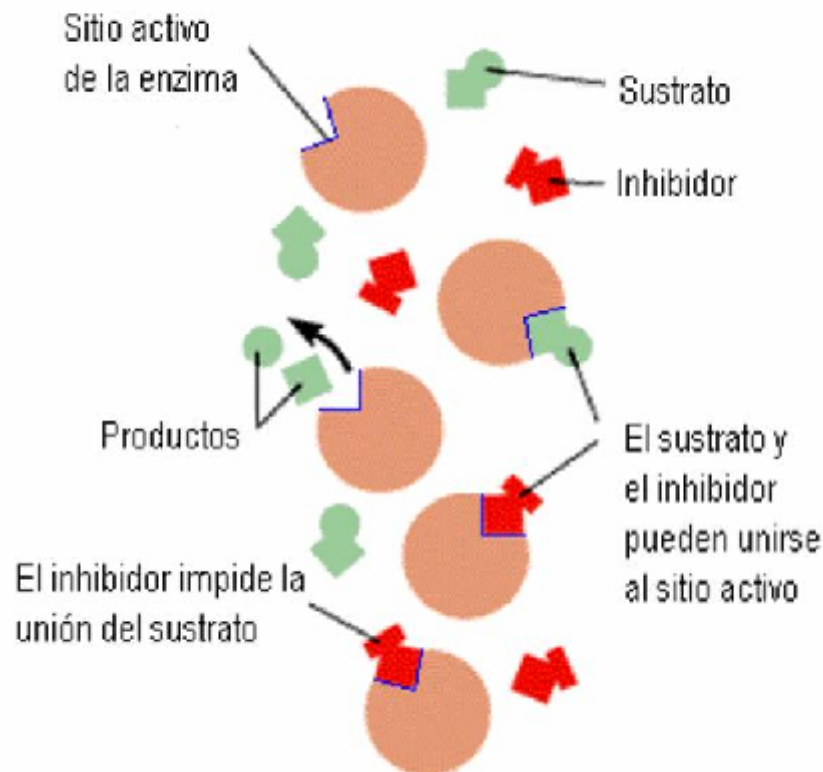


- **No competitiva.**

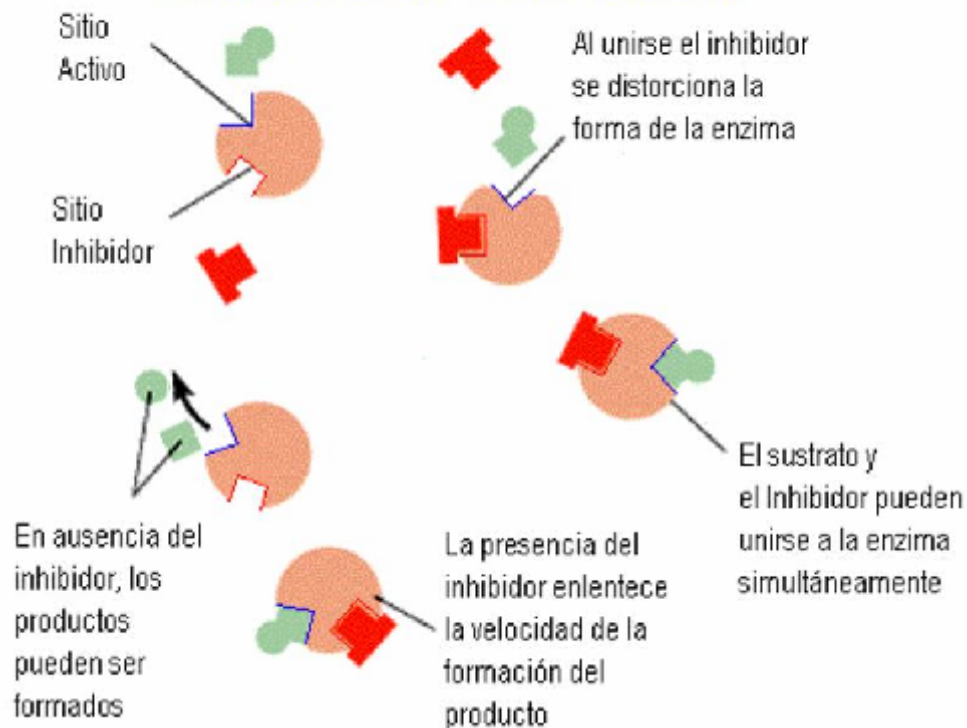
- El I se une a un lugar distinto al centro activo pero altera su conformación impidiendo la unión del S.
- Un aumento de [S] no recupera la actividad.



INHIBICIÓN COMPETITIVA

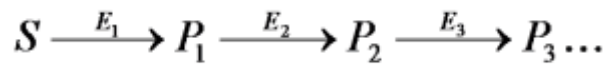


INHIBICIÓN NO COMPETITIVA



5. Regulación de la actividad enzimática.

- En el metabolismo grupos de enzimas actúan secuencialmente realizando rutas metabólicas.
- En estas el P de una reacción es el S de la siguiente.



- En todas hay al menos un enzima llamado regulador que establece la velocidad de la secuencia y que en muchos casos es el primero.
- Así la célula regula la producción de las sustancias que requiere evitando la superproducción y el gasto inútil de materia y energía.
- Puede hacerse actuando en:

- **La síntesis del enzima.**

- Solo se produce cuando y cuanto es necesario.
- Tras actuar se degrada.

- **La actividad del enzima.**

- Dos conformaciones una activa y otra inactiva.
- La unión de un ligando cambia de una a otra.
- Se dan así dos tipos de regulación

- **Por modificación covalente.**

- Un compuesto se une covalentemente, o se separa, para pasar de una forma a otra.
- Es frecuente la fosforilación-desfosforilación en un residuo de serina.
- La unión de fosfato está catalizada por una quinasa y la separación por una fosfatasa.

- **Por alosterismo.**

- Unión no covalente con una molécula llamada modulador o efector alostérico.
- Algunos enzimas presentan más de uno.
- Cada modulador tiene su sitio específico de unión.
- Los moduladores pueden ser:

- **Positivos o activadores.**

- La unión produce mayor velocidad.
- Frecuentemente es el propio sustrato.
- Evita la acumulación excesiva de tal.

- **Negativos o inhibidores.**

- La unión cambia a la forma inactiva.
- Suelen ser los productos finales.
- Regulación por retroalimentación o feed-back.

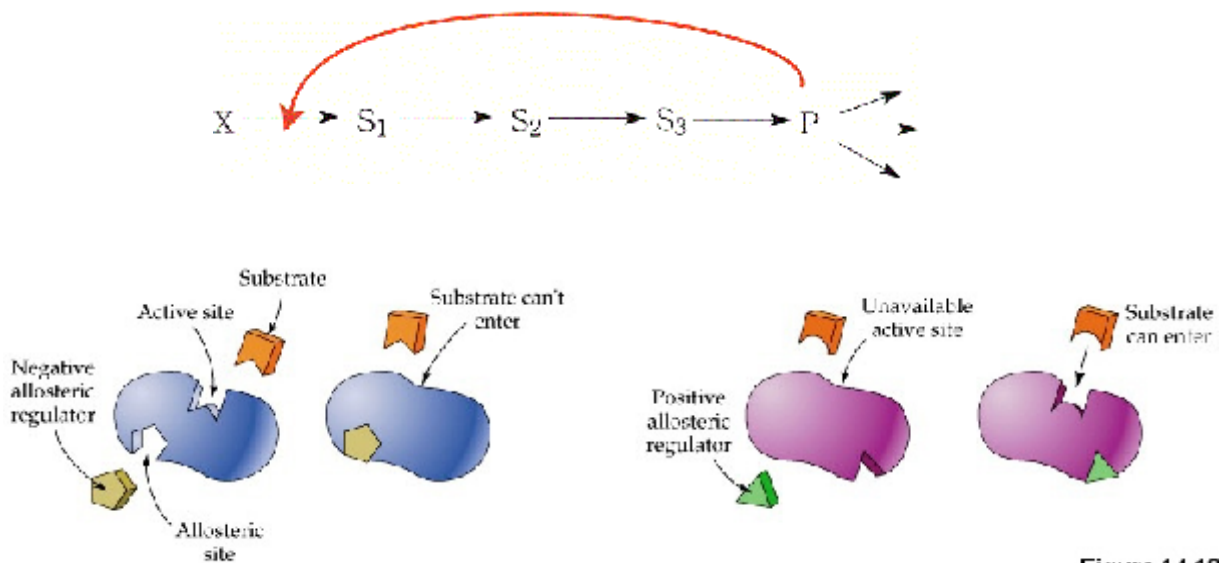


Figura 14.10

6. Las vitaminas.

- Son sustancias orgánicas, de composición variada, que los seres vivos necesitan en cantidades mínimas para su funcionamiento., de ahí que se consideren micronutrientes.
- Las primeras en descubrirse (tiamina, B_1) llevaban aminos de ahí su nombre “amina fundamental para la vida”.
- Son compuestos esenciales que no pueden ser sintetizados por la mayoría de los animales por ello han de incluirse en la dieta.
- Aunque no proporcionan energía ni constituyen elementos estructurales, son imprescindibles por desempeñar un papel regulador.
- La mayor parte de ellas actúan como coenzimas en reacciones metabólicas fundamentales para la vida.
- Su carencia extrema produce **avitaminosis** y genera enfermedades muy graves que pueden provocar la muerte.
- Si sólo se produce un aporte inferior al necesario se padece **hipovitaminosis** y la salud se altera aunque ésta se recupera al aumentar la dosis.
- La **hipervitaminosis** aparece por un consumo excesivo de algunas vitaminas que se acumulan en el organismo y produce efectos nocivos.
- Actualmente se ha descrito un síndrome hipervitamínico, característico del mundo desarrollado, que aparece por la ingesta de alimentos enriquecidos artificialmente en vitaminas y de dietas específicas con complementos (adicción a los gimnasios, vigorexia, etc.).
- No se debe a una proteína en concreto sino a muchas y sus síntomas más evidentes son insomnio y fuerte agitación nerviosa.
- En función de su comportamiento en disolución se clasifican en hidrosolubles y liposolubles.

- Hidrosolubles.
 - Son polares y solubles en agua.
 - Son excretadas o destruidas en el metabolismo.
 - Deben obtenerse a partir de los alimentos.
 - Todas menos la C, que interviene en la síntesis de colágeno, actúan como preventivas.
 - Se incluyen la tiamina o B₁, la riboflavina o B₂, el ácido nicotínico o B₃, el ácido pantoténico o B₅, la piridoxina o B₆, la cianocobalamina o B₁₂, la biotina o B₈, el ácido fólico o B₉ y el ácido ascórbico o vitamina C.
- Liposolubles.
 - Son apolares e insolubles en agua.
 - Son de difícil eliminación.
 - Derivadas del isopreno.
 - Suelen incorporarse como provitaminas.
 - Incluyen el retinol o vitamina A, el calciferol o D, el tocoferol o E y la naftoquinona o K.
- Existen multitud de tablas que indican sus funciones y características se recomienda la de vuestro libro de texto.